

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-225

(P2003-225A)

(43) 公開日 平成15年1月7日(2003.1.7)

| (51)Int.Cl. ⁷ | 識別記号 | F I | データ*(参考) | |
|--------------------------|------|---------|----------|-------------|
| C 1 2 M | 1/42 | C 1 2 M | 1/42 | 4 B 0 2 9 |
| | 1/00 | | 1/00 | D 4 B 0 6 5 |
| | 3/06 | | 3/06 | |
| C 1 2 N | 5/06 | C 1 2 N | 5/00 | E |

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願2001-191899(P2001-191899)

(22) 出願日 平成13年6月25日(2001.6.25)

(71) 出願人 598162562

株式会社白寿生科学研究所

東京都板橋区大山東町32番17号

(72) 発明者 道解 冬樹

東京都板橋区大山東町32番17号 株式会社

白寿生科学研究所内

(72) 発明者 伊坂 勝生

徳島県徳島市中常三島町2-9-5

(74) 代理人 100086368

弁理士 萩原 誠

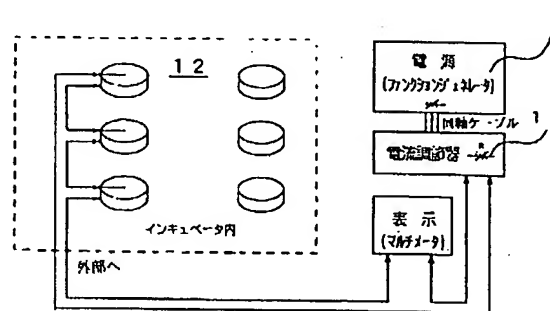
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞培養装置及び細胞培養方法

(57) 【要約】

【課題】 電流密度を均一にして細胞をバラツキなく培養させることができる細胞培養装置及び細胞培養方法を提供する。

【解決手段】 底部に下部電極16を設置してなる所定の容積を有する容器14と、容器14の上方から被せて容器14を密封し、かつ下部電極16に対向して配設した上部電極18を備え、容器14と上下方向に対向して配置される蓋体17と、容器14内に嵌挿され、かつほぼ中央に所定の横断面積からなる容積を有する中空部21を備える培養用部材20と、容器14と培養用部材20との間に配設されたフィルタ25と、下部電極16及び上部電極18に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流すための電源装置とを備える。



(2) 特開2003-225(P2003-225A)

【特許請求の範囲】

【請求項1】 底部に下部電極を設置してなる所定の容積を有する容器と；前記容器の上方から被せて前記容器を密封し、かつ前記下部電極に対向して配設した上部電極を備え、前記容器と上下方向に対向して配置される蓋体と；前記容器内に嵌挿され、かつほぼ中央に所定の横断面積からなる容積を有する中空部を備える培養用部材と；前記容器と前記培養用部材との間に配設されたフィルタと；前記下部電極及び前記上部電極に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流すための電源装置と；を備えたことを特徴とする細胞培養装置。

【請求項2】 底部に下部電極を設置してなる所定の容積を有する培養用容器と；前記培養用容器の上方から被せて前記容器を密封し、かつ前記下部電極に対向して配設した上部電極を備え、前記下側容器と上下方向に対向して配置される蓋体と；前記容器に固定して配設される押え部材と；前記容器と前記押え部材との間に配設された所定の横断面積を有するフィルタと；前記下部電極及び前記上部電極に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流すための電源装置と；を備えたことを特徴とする細胞培養装置。

【請求項3】 下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培養させるための細胞培養装置であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を均一にし、細胞に均一な電流密度を与える電流密度生成手段を備えたことを特徴とする細胞培養装置。

【請求項4】 前記下部電極は、前記容器の底部に設けられた凹所内に配設されることを特徴とする請求項1記載の細胞培養装置。

【請求項5】 前記上部及び下部電極は渦巻き状の白金から作られることを特徴とする請求項1乃至3記載の細胞培養装置。

【請求項6】 前記上部及び下部電極の対向する表面にアガロースを塗布してなることを特徴とする請求項1乃至3記載の細胞培養装置。

【請求項7】 前記フィルタは、透過性メンブレイン膜又は透過性コラーゲン膜であることを特徴とする請求項1又は2記載の細胞培養装置。

【請求項8】 前記培養用部材は、着脱のためのピンセットを入れるための対の孔を備えることを特徴とする請求項1記載の細胞培養装置。

【請求項9】 下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培養させるための細胞培養方法であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を均一にし、細胞に均一に電流密度を与えることを特徴とする細胞培養方法。

【請求項10】 下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培

養させるための細胞培養方法であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を可変にし、細胞に電流密度を可変して与えることを特徴とする細胞培養方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、培地内の細胞を培養するための細胞培養装置及び細胞培養方法に関する。

【0002】

【従来の技術】図7は、従来の横型細胞培養装置の概略図である。図において、ファンクションジェネレータ1（関数発生器）の電流は増幅器2、電流計3を介して細胞培養装置内の両端に配設された電極の接続端子6に流れる。細胞培養装置は培養槽4の両側に直接に、若しくは汚染物質除去のためにアガロース5を介して電極間に電圧を印加することにより培養液内の細胞に電流を流す。そして、流れる電流値はオシロスコープ7にて求められる。図8は、他の細胞培養装置の概略図である。該図も同様に電流源8から絶縁物10で覆われた白金電極9に接続し、直接培地に差し込みに培地内の細胞に電流を流すものである。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】従来の細胞培養装置は電流を左右、すなわち横方向に流すものであった。このため、電流密度を均一にしても浮遊細胞と吸着細胞とで、細胞の形状、培地の成分沈殿などの影響により、細胞への電流刺激に偏りがあった。また、電極表面近傍で化学反応により細胞の培養に影響を与えるためアガロースなどの緩衝剤を電極表面に付着させていた。さらに、培養する細胞の種類に応じて、あるいは細胞内物質の同定実験に対しては、使用する培地量を変化して対応するため、多種の培養皿が必要になるというような欠点を持っていた。

【0004】本発明は、上述した従来の欠点を解決するためになされたもので、その目的は電流の向きを上下（縦型）にすることにより電流密度を均一にして細胞をバラツキなく培養させることができる細胞培養装置及び細胞培養方法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】請求項1に係る細胞培養装置は、底部に下部電極を設置してなる所定の容積を有する容器と；前記容器の上方から被せて前記容器を密封し、かつ前記下部電極に対向して配設した上部電極を備え、前記容器と上下方向に対向して配置される蓋体と；前記容器内に嵌挿され、かつほぼ中央に所定の横断面積からなる容積を有する中空部を備える培養用部材と；前記容器と前記培養用部材との間に配設されたフィルタと；前記下部電極及び前記上部電極に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流すための電源装置とを備える。

【0006】請求項2に係る細胞培養装置は、底部に下

(3) 特開2003-225(P2003-225A)

部電極を設置してなる所定の容積を有する培養用容器と；前記培養用容器の上方から被せて前記容器を密封し、かつ前記下部電極に対向して配設した上部電極を備え、前記下側容器と上下方向に対向して配置される蓋体と；前記容器に固定して配設されてなる押え部材と；前記容器と前記押え部材との間に配設された所定の横断面積を有するフィルタと；前記下部電極及び前記上部電極に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流すための電源装置とを備える。

【0007】請求項3に係る細胞培養装置は、下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培養させるための細胞培養装置であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を均一にし、細胞に均一な電流密度を与える電流密度生成手段を備える。

【0008】請求項4に係る細胞培養装置は、前記下部電極は、前記容器の底部に設けられた凹所内に配設されることを特徴とする。

【0009】請求項5に係る細胞培養装置は、前記上部及び下部電極は渦巻き状の白金から作られることを特徴とする。

【0010】請求項6に係る細胞培養装置は、前記上部及び下部電極の対向する表面にアガロスを塗布してなることを特徴とする。

【0011】請求項7に係る細胞培養装置は、前記フィルタは、透過性メンブレイン膜又は透過性コラーゲン膜であることを特徴とする。

【0012】請求項8に係る細胞培養装置は、前記培養用部材は、着脱のためのピンセットを入れるための対の孔を備えることを特徴とする。

【0013】請求項9に係る細胞培養方法は、下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培養させるための細胞培養方法であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を均一にし、細胞に均一に電流密度を与えることを特徴とする。

【0014】請求項10に係る細胞培養方法は、下部電極と上部電極との間に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流して培地内の細胞を培養させるための細胞培養方法であって、電流の流れる方向を上下方向にして培地内の電流密度を可変にし、細胞に電流密度を可変して与えることを特徴とする。

【0015】

【発明の実施の形態】以下、本発明に係る細胞培養装置の実施の形態を添付図面を参照して詳述する。図1は細胞培養装置の概略配置図を示すものである。ファンクションジェネレータ1によって発生した信号波形を電流調節器11を介して電流源とし、これを細胞培養装置群12に直列接続し、閉回路内に流れる電流を電流計により測定して表示する。

【0016】図2は細胞培養装置13の構造を示す概略図である。図に示された細胞培養装置において、符号14は、円筒形状をした内部中空の所定の容積を有する容器である。容器14は、底部のほぼ中央に凹所15を備え、凹所15内に下部電極16が配設されている。容器14には、上方より蓋体17が被せられる。蓋体17は、下部電極16に対向した位置に上部電極18を備える。上部及び下部電極18、16は、渦巻き状若しくは円板状白金電極からなる。両電極18、16は、それぞれ接続端子19を介して電流源（図示せず）に接続される。電極を渦巻き状にすることにより、その隙間から細胞の形態を観察することができる。かくして、下部電極16及び上部電極18に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流す。そして、下側容器14と蓋体17とは、上下方向（縦型）に設置されている。上部及び下部電極18、16の表面にアガロスを塗布するようにしてもよい。電極表面にアガロスを塗布することにより電極表面近傍の化学反応の細胞への影響を軽減することができる。

【0017】符号20は、容器14に嵌挿され、かつほぼ中央に培養する細胞を入れた培地を収容するための所定の容積を有する中空部21を備える円筒形の培養用部材である。中空部21は、ほぼ中央で蓋体17の上部電極18を収納する。培養用部材20は、図3に示されるように、容器14に嵌合した該部20の取り出しを容易にするために対の孔22を上面に備える。かくして、ピンセットを孔22に入れ、ピンセットで中間部材20を挟むことにより容易に取り外すことができる。符号23は、培地の乾燥を防止するための間隙用突起である。符号24は、培地である。

【0018】そして、培養用部材20と容器14の間には培養用部材20の中空部21の培地24に入れられた細胞が、容器14の下部電極16に落下して該電極16に接触するのを防止するためのフィルタ25が配設される。フィルタ25は、透過性メンブレイン膜からなり、その孔径は0.4、厚さ8ミクロンである。培養用部材20と容器14との隙間は、培養用部材20の中空部21に入れられた培地24が培養部材20の外にあふれ出ないように約0.2mm以下に設定されている。

【0019】また、培地量を多く必要とする場合、図4に示されるように、培養用部材20の中空部21の横断面積Aを大きくして容積を大きくし、一方培地量を少なくする場合、図5に示されるように、培養用部材20の中空部21の横断面積B（ $A > B$ ）を小さくし、容積を小さくする。かくして、中空部21の横断面積の異なる培養用部材20を複数個用意しておくことにより、培養用部材20の交換のみで簡単に培地量を変更することができる。よって培養する細胞の種類により培地量が異なっても迅速にかつ容易に対応することができる。培養用部材20を交換することのみで、1ml、3mlなど数

(4) 特開2003-225(P2003-225A)

種の培地量に対応できる。

【0020】容器14の凹所15にあらかじめ培地24を入れ、そして容器14と培養用部材20との間に透過性メンブレンフィルタ25を配設する。その後、培養する細胞を含んだ培地24を上部電極18が浸る位置まで適量入れ、上部電極18と下部電極16との間に所定の電圧を印加して電流を流す。培地24内の電流密度は、流した電流値を培養用部材20の中空部21の横断面積で除することにより求められる。そして、電流の流れる方向を上下方向にすることにより培地24内の電流密度を均一にでき、よって細胞に均一の電流密度を与えることができる。さらに、培地24内の電流密度は、電流値を一定にすることにより、培養用部材20を複数個用意して断面積を可変することにより可変させることができる。

【0021】細胞を培養するには、下部電極16と上部電極18との間に所定の電圧を印加して両電極間に細胞に対して電流を上下方向から流れるようにし、かつ該細胞に均一の電流密度を与える。

【0022】図6は細胞培養装置の他の実施の形態を示す。該細胞培養装置において、符号26は、細胞を培養するための培地24を収容する培養容器である。容器26は、円筒形状をした内部中空の容器である。容器24は、底部のほぼ中央に凹所15を備え、凹所15内に下部電極16が配設されている。容器26には、上方から蓋体17が被せられる。蓋体17は、下部電極16に対向した位置に上部電極18を備える。上部及び下部電極18、16は、渦巻き状白金電極であり、両電極18、16は、それぞれ接続端子19を介して電流源(図示せず)に接続される。かくして、下部電極16及び上部電極18に所定の電圧を印加して両電極間に電流を流す。

【0023】そして、培養容器26と蓋体17とは、上下方向(縦型)に設置されている。培養用容器26の内部は、透過性コラーゲン膜を使用したフィルタ27と、フィルタ27の浮き上がりを防止する押え部材28とを備える。かくして、フィルタ27は、培地24内の細胞が下部電極16に落下するのを防止する。フィルタ27は、下側容器26と押え部材28との間に配設され、容器26に入れられた培地24により浮き上がることが防止される。培地24内の電流密度は、流した電流値を透過性コラーゲン膜からなるフィルタ27の横断面積で除することで求められる。さらに、電流値が一定の場合、透過性コラーゲン膜からなるフィルタ27の横断面積を可変することにより該細胞に対して電流密度を可変して与えることができる。

【0024】細胞を培養するには、下部電極16と上部電極18との間に所定の電圧を印加して両電極間に細胞に対して電流を上下方向から流れるようにし、かつ該細胞に均一の電流密度を与える。なお、該細胞培養装置及び該細胞培養方法は、特に細胞培養実験に好適に使用さ

れる。

【0025】

【発明の効果】本発明に係る細胞培養装置及び細胞培養方法によれば、電流の向きを上下(縦型)に流すことにより電流密度を均一にして細胞をバラツキなく培養させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る細胞培養装置を示す概略配置図である。

【図2】本発明に係る細胞培養装置を示す概略図である。

【図3】本発明に係る細胞培養装置の培養用部材を示す概略図である。

【図4】本発明に係る細胞培養装置の培養用部材を示す断面図である。

【図5】本発明に係る細胞培養装置の他の培養用部材を示す断面図である。

【図6】本発明に係る他の細胞培養装置を示す概略図である。

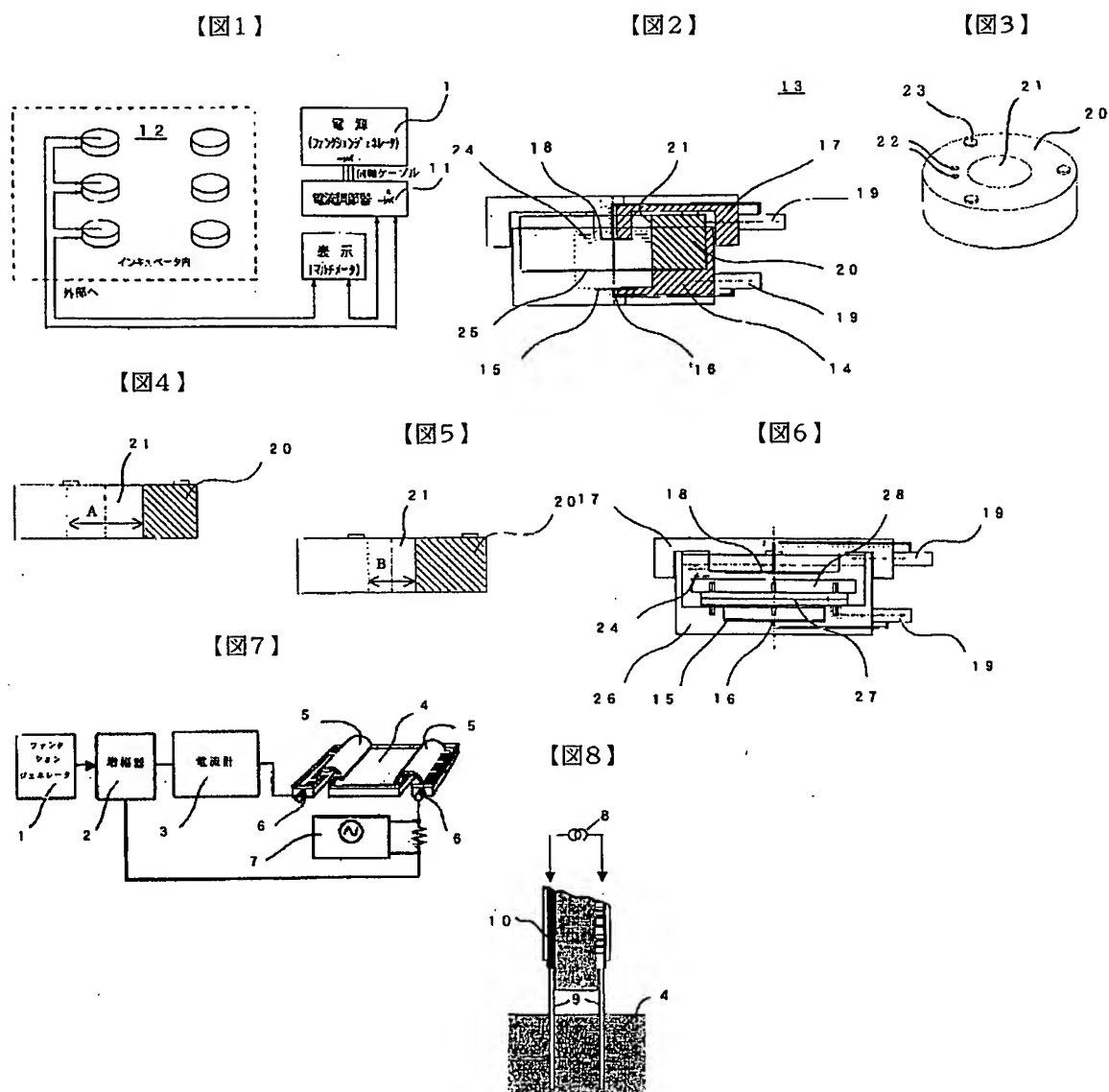
【図7】従来の横型細胞培養装置を示す概略図である。

【図8】従来の他の細胞培養装置を示す概略図である。

【符号の説明】

- 1 ファンクションジェネレータ
- 2 増幅器
- 3 電流計
- 4 培養槽
- 5 アガロース
- 6 接続端子
- 7 オシロスコープ
- 8 電流源
- 9 白金電極
- 10 絶縁物
- 11 電流調節器
- 12 細胞培養装置群
- 13 細胞培養装置
- 14 容器
- 15 凹所
- 16 下部電極
- 17 蓋体
- 18 上部電極
- 19 接続端子
- 20 培養部材
- 21 中空部
- 22 孔
- 23 間隙用突起
- 24 培地
- 25, 27 フィルタ
- 26 培養容器
- 28 押え部材

(5) 特開2003-225 (P2003-225A)



フロントページの続き

(72)発明者 原 昭邦
 東京都板橋区大山東町32番17号 株式会社
 白寿生科学研究所内

Fターム(参考) 4B029 AA02 AA24 BB11 CC01 CC04
 DA10 DG01
 4B065 AA90X BC01 BC50